

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM
(*Nigella sativa* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH, VEGF DAN
GAMBARAN PROTEKSI RETINA PADA TIKUS YANG
DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN*-*NIKOTINAMIDE***

TESIS




Oleh:

**Krisantus Y. Oeleu
SBF131710168**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM
(*Nigella sativa* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH, VEGF DAN
GAMBARAN PROTEKSI RETINA PADA TIKUS YANG
DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMIDE**

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana strata-2
Program Studi S-2 Farmasi
Minat Farmasi Sains*

Oleh:

**Krisantus Y. Oeleu
SBF131710168**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN TESIS

Berjudul

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM
(*Nigela sativa* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH, *VEGF* DAN
GAMBARAN PROTEKSI RETINA PADA TIKUS YANG
DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMIDE***

Oleh :

**KRISANTUS YOSEF OELEU
SBF131710168**

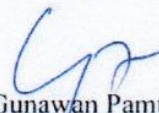
Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Agustus 2010

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

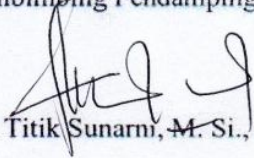


Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.,

Pembimbing Utama,

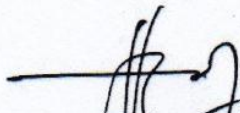

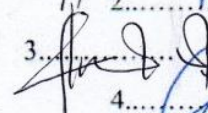
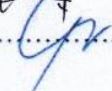

Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,


Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt

Dewan Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M. Si., Apt
2. Dr. Opstaria Saptarini, M. Si., Apt
3. Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt
4. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt


1.....

2.....

3.....

4.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Jangan takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan-Ku yang membawa kemenangan.

(Yesaya. 41:10)

Senang, sedih, susah, galau, gundah gulana, yang kualami selama ini merupakan perjuangan yang tak pernah terlupakan. Aku jatuh dan kemudian bangkit kembali, aku kalah dan kemudian ku berusaha kembali untuk menang. Hidup adalah pilihan dan aku memilih untuk terus bangkit.

(Penulis)

Kupersembahkan kepada:

*Allah Maha Kuasa yang telah memberikan segalanya kepadaku
Ayah dan ibuku yang tercinta, sebagai wujud rasa hormat dan terima kasihku
Keluarga besarku yang selalu memberiku semangat menjadi motivasi hidupku
Sahabat-sahabatku dan kekasihku tercinta yang tak bisa kusebutkan satu persatu
Almamater tercinta UNIVERSITAS SETIA BUDI
Bangsa dan Negara*

PERNYATAAN

Saya menyatakan tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian, karya ilmiah atau tesis orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Agustus 2019



Krisantus Y. Oeleu

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan Kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH, VEGF DAN GAMBARAN PROTEKSI RETINA PADA TIKUS YANG DIINDUKSI *STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMIDE*” guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Master Sains pada Program S2 Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan tesis ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Pascasarjana Universitas Setia Budi Surakarta, sekaligus Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan kepada penulis.
4. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan berbagai arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan Tesis ini.
5. Dr. Ika Puspitasari, M.Si., Apt., selaku penguji pertama yang telah meluangkan waktu sehingga ujian Tesis dapat terlaksana.
6. Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis haturkan kepada kedua Orang Tua serta Saudara/i yang telah memberikan semangat dan motivasi hingga terselesaikan tesis ini.
7. Teman – teman Organisasi Flobamorata yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis.

8. Rekan – rekan Mahasiswa Program Studi S2 Magister Farmasi yang telah memberikan dukungan dan kerjasamanya selama ini.
9. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu penulis, baik dukungan moral atau spiritual dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan segala saran dan kritik yang bersifat membangun. Penulis percaya bahwa tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk pengembangan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, 20 Agustus 2019

Krisantus Y. Oeleu

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGESAHAN TESIS	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A.. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Keaslian Penelitian	5
E. Kegunaan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Jinten Hitam (<i>Nigella sativa</i> L)	7
1. Sistematika tanaman	7
2. Nama lain	7
3. Khasiat	7
4. Kandungan kimia	7
B. Diabetes Melitus	9
1. Definisi Diabetes Melitus	9
2. Klasifikasi DM	9
3. Patofisiologi DM	11
4. Komplikasi DM	11
5. Status Oksidatif DM	12
6. Terapi DM	12
C. Retinopati Diabetik	15
1. Definisi Retinopati Diabetik	15
2. Anatomi Mata	17
3. Retina	17
4. Anatomi Makroskopik Retina	17
5. Anatomi Mikroskopik Retina	19

6. Destruksi Fotoreseptor Pada Hewan Coba.....	19
7. Vaskularisasi Retina.....	20
8. Faktor Risiko	21
9. Etiopatogenesis.....	22
10.Patofisiologi	22
D. <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>	25
1. Definisi	25
2. <i>VEGF</i> pada Diabetes Melitus	29
3. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Ekpresi <i>VEGF</i>	31
E. Metode Uji Aktivitas Antidiabetes.....	31
1. Uji antidiabetes	31
2. Metode analisa kadar glukosa darah.....	33
F. Streptozotocin	34
1. Definisi	34
2. Mekanisme Kerja.....	35
G. Nikotinamide	35
1. Definisi	35
2. Mekanisme	36
H. Hewan Uji.....	36
1. Sistematika tikus.....	36
2. Karakteristis utama tikus putih.....	37
I. Simplisia dan Metode Penyarian	38
1. Simplisia.....	38
2. Ekstraksi	38
3. Metode penyarian.....	39
4. Cairan penyari.....	40
J. Landasan Teori.....	41
K. Hipotesis.....	43
BAB III METODE PENELITIAN	45
A. Rancangan Penelitian.....	45
B. Populasi dan Sampel	45
1. Populasi	45
2. Sampel.....	45
C. Variabel Penelitian.....	46
1. Identifikasi variabel utama	46
2. Klasifikasi variabel utama	46
3. Definisi operasional	46
D. Bahan, Alat dan Hewan Percobaan.....	47
1. Bahan	47
2. Alat.....	47
3. Hewan Percobaan	47
E. Jalannya penelitian	47
1. Pengambilan Bahan	47
2. Identifikasi Biji Jinten Hitam	48
3. Pembuatan Serbuk Biji Jinten Hitam.....	48
4. Penetapan Kadar Air Serbuk Biji Jinten Hitam.....	48

5. Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam	48
6. Identifikasi Kualitatif Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam	48
7. Pembuatan Larutan Streptozotocin	49
8. Persiapan Hewan Percobaan.....	49
9. Pengukuran Kadar Glukosa Darah Hewan Percobaan.....	50
10.Pengukuran kadar VEGF	50
11.Prosedur Uji Histopatologi.....	51
F. Analisis hasil	52
G. Alur Penelitian.....	53
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	55
A. Hasil Identifikasi Biji Jinten Hitam	55
1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Biji Jinten.....	55
2. Hasil Pemeriksaan Makroskopis Biji.....	56
3. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis	56
B. Pengumpulan Bahan dan Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Jinten Hitam	58
C. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk Biji Jinten Hitam.....	58
D. Hasil Karakterisasi Serbuk Biji Jinten Hitam	59
1. Penetapan kadar air serbuk biji jinten hitam	59
2. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Biji Jinten Hitam ...	60
E. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam	60
F. Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak.....	61
1. Identifikasi Flavonoid	61
2. Identifikasi alkaloid.....	62
3. Identifikasi Saponin	63
G. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus.....	64
H. Hasil Penentuan Kadar Glukosa Darah Tikus	69
I. Hasil Pengukuran Kadar VEGF (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)	76
J. Hasil pengamatan organ mata	79
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	813
A. Kesimpulan	813
B. Saran	813
BAB VI RINGKASAN.....	84
DAFTAR PUSTAKA	90
LAMPIRAN	101

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hipotesis mengenai mekanisme retinopati diabetik.....	25
Tabel 2. Pengamatan Organoleptik biji jinten hitam.....	55
Tabel 3. Pengamatan makroskopis biji jinten hitam.....	55
Tabel 4. Hasil pemeriksaan mikroskopis serbuk biji jinten hitam.....	56
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji jinten hitam....	57
Tabel 6. Hasil penetapan kadar air biji jinten hitam.....	58
Tabel 7. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji jinten hitam....	59
Tabel 8. Hasil identifikasi senyawa flavonoid.....	60
Tabel 9. Hasil identifikasi senyawa alkaloid.....	61
Tabel 10. Hasil identifikasi senyawa saponin.....	62
Tabel 11. Perubahan rata-rata BB tikus (g) dan persentase kenaikan rata-rata BB tikus.....	63
Tabel 12. Rata-rata kadar glukosa darah.....	70
Tabel 13. Rata-rata pengukuran kadar VEGF.....	77

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Gambaran funduskopi retinopati diabetik.....	19
Gambar 2. Mikroskopik retinopati diabetik.....	19
Gambar 3. Hasil Histologi Retina Tikus.....	20
Gambar 4. Struktur kimia streptozotocin.....	34
Gambar 5. Struktur kimia Nikotinamid.....	36
Gambar 6. Kerangka konsep penelitian.....	44
Gambar 7. Alur penelitian pembuatan ekstrak uji biji jinten hitam.....	53
Gambar 8. Alur penelitian uji aktivitas antihiperglikemik, VEGF dan gambaran histopalogi retina tikus.....	54
Gambar 9. Rata-rata BB hari ke-1 sampai hari ke-42.....	65
Gambar 10. Grafik pengaruh pemberian ekstrak etanol biji jinten hitam terhadap kadar glukosa darah.....	72
Gambar 11. Hasil foto retina potongan mata dengan pewarnaan HE.....	80

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi biji jinten hitam.....	101
Lampiran 2. Surat keterangan Health Research Ethics Commite.....	102
Lampiran 3. Surat keterangan telah melakukan penelitian di Laboratotium Gizi Universitas Gadjah Mada.....	103
Lampiran 4. Hasil karakterisasi serbuk biji jinten hitam	104
Lampiran 5. Hasil pembuatan ekstrak maserasi biji jinten hitam.....	106
Lampiran 6. Foto perlakuan pada tikus.....	107
Lampiran 7. Foto preparasi jaringan mata	108
Lampiran 8. Hasil perhitunga perubahan berat badan tikus.....	109
Lampiran 9. Perhitungan dosis konversi ekstrak biji jinten hitam.....	110
Lampiran 10. Perhitungan dosis glibenklamid.....	111
Lampiran 11. Perhitungan dosis ekstrak etanol 100mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB.....	112
Lampiran 12. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₀	115
Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₁	116
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₂	117
Lampiran 15. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₃	118
Lampiran 16. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₄	119
Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T ₅	120
Lampiran 18. Penentuan persen perubahan kadar glukosa darah.....	121
Lampiran 19. Pengukuran kadar VEGF.....	122
Lampiran 20. Hasil uji Anova BB tikus	123
Lampiran 21. Hasil uji Anova kadar glukosa.....	134
Lampiran 22. Hasil uji Anova kadar VEGF.....	148

DAFTAR SINGKATAN

ADP	Adenosin difosfat
AGE	Advanced Glycation End-Product
ATP	Adenosine Triphosphate
BDR	Background Diabetic Retinopathy
CMC-Na	Carboxymethyle Cellulose – Natrium
DM	Diabetes Melitus
DNA	Asam Deoksiribonukleat
DR	Diabetes Retinopati
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAK	Focal Adhesion Kinase
GH	Growth Hormone
GLUT	Glucose Transporter
HFD	High Fat Diet
HRP	Horseradis Peroksidase
IDF	International Diabetes Federation
IGF-I	Insulin Like Growth Factor
INL	Inner Nuclear Layer
IPL	Inner Plexiform Layer
IRMA	Intraretinal Microvasculer Abnormal
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
NA	Nikotinamide
NAD	Nikotinamida adenina dinukleotida
NADPH	Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen
NDPR	Non Proliferatif Diabetik Retinopati
NF	Nuclear Factor
NO	Nitrit Oxide
NOS	Nitrous Oxide System
ONL	Outer Nuclear Layer
OPL	Outer Plexiform Layer
PBS	Phosphat Buffer Saline

PDR	Proliferate Diabetic Retinopathy
PEDF	Pigment Epithelium Derived Factor
PKC	Protein Kinase C
PRL	Photoreseptor Layer
ROS	Reactive Oxygen Species
SD	Standar Deviasi
SDR	Severe Diabetic Retinopathy
STZ	Streptozotocin
TGF	Transforming Growth Factor
TMB	Tetra Meril Benzidin
TTPA	Tissue Type Plasminogen Activator
UV	Ultra Violet
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WHO	World Health Organisation

INTISARI

OELEU, K. Y. 2019. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM (*Nigela sativa* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH, VEGF DAN GAMBARAN PROTEKSI RETINA PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMIDE, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Hiperglikemik dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan komplikasi retinopati diabetik. Retinopati diabetik dinilai dengan kenaikan VEGF plasma dan ekspresi VEGF karena stres oksidatif, *uncoupling VEGF* dan *NO* serta regulasi fungsi pembuluh darah retina. Salah satu antidiabetik retinopati adalah biji jinten hitam (*Nigela sativa* L.). Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antihiperglikemik ekstrak etanol biji jinten hitam dan mengetahui penurunan kadar VEGF oleh ekstrak etanol biji jinten hitam.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan *post test only group design*. Subyek penelitian ini adalah 30 ekor tikus wistar jantan yang dikondisikan DM tipe 2 dengan induksi streptozotocin-nikotinamide. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok : kelompok I normal (CMC-Na), kelompok II kontrol negatif streptozotocin 60 mg/kg BB-nikotinamide 120 mg/kg BB, kelompok III kontrol positif glibenklamid 0,45 mg/kg BB, kelompok IV dosis ekstrak biji jinten hitam 100 mg/kg BB, kelompok V dosis ekstrak biji jinten hitam 200 mg/kg BB dan kelompok VI dosis ekstrak biji jinten hitam 400 mg/kg BB.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji jinten hitam dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus, kadar VEGF dan dapat meregenerasi kerusakan pada retina mata. Dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah dan VEGF adalah dosis 400 mg/kg BB.

Kata kunci : *Nigela sativa* L, antihiperglikemik, VEGF, regenerasi retina

ABSTRACT

OELEU, K. Y. 2019. THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF *Nigella sativa* L. ON BLOOD GLUCOSE LEVEL, VEGF AND DESCRIPTION OF RETINE PROTECTION IN RATS OF STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMIDE INDUCED RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI OF UNIVERSITY, SURAKARTA.

Hyperglycemic in the long term can cause complications of diabetic retinopathy. Diabetic retinopathy is assessed by an increase in plasma VEGF and VEGF expression due to oxidative stress, uncoupling VEGF and NO and regulation of retinal blood vessel function. One antidiabetic retinopathy is black cumin seeds (*Nigella sativa* L). This study aims to determine the antihyperglycemic activity of ethanol extract of black cumin seeds and determine the decrease in VEGF levels by ethanol extract of black cumin seeds.

This research is an experimental laboratory study using a post test only group design. The subjects of this study were 30 male Wistar rats conditioned by type 2 DM with streptozotocin-nicotinamide induction. Rats were grouped into 6 groups: normal group I (CMC-Na), group II negative control streptozotocin 60 mg/kg bw nicotinamide 120 mg/kg bw, group III positive control glibenclamide 0.45 mg/kg bw, group IV extract dose black cumin seeds 100 mg/kg bw, group V dose of black cumin seeds 200 mg/kg bw and group VI black cumin seeds extract 400 mg/kg bw.

The results showed that ethanol extracts of black cumin seeds dose of 100, 200 and 400 mg/kg bw could reduce rat blood glucose levels, VEGF levels and could regenerate eye retina damage. The most effective dose in reducing blood glucose and VEGF is a dose of 400 mg/kg bw.

Keywords: *Nigella sativa* L, antihyperglycemic, VEGF, retinal regeneration

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit yang sekarang banyak diderita oleh sebagian besar penduduk dunia saat ini dan menduduki 10 besar penyebab penyandang disabilitas dan perkembangan manusia. Angka penderita diabetes di dunia akan meningkat lebih dari 366 juta pada tahun 2011 menjadi 552 juta pada tahun 2030 atau 1 dari 10 orang dewasa. Tahun 2012, jumlah penduduk negara Indonesia menjadi peringkat tertinggi ke 7 yang menderita diabetes, yaitu 7.551.940 penderita dan diperkirakan sejumlah 4.437.520 orang terlewat tidak terdiagnosa. Angka mortalitas akibat diabetes di Indonesia mencapai 155.465 jiwa (IDF, 2011). Menurut WHO (*World Health Organization*) tahun 2015, 415 juta orang dewasa dengan diabetes, kenaikan 4 kali lipat dari 108 juta di 1980an. Pada tahun 2040 diperkirakan jumlahnya akan menjadi 642 juta orang (WHO, 2015). Indonesia menempati peringkat ke 7 di dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi di dunia bersama dengan China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia dan Meksiko dengan jumlah estimasi orang dengan diabetes sebesar 10 juta (IDF Atlas, 2015). Presentasi kematian akibat diabetes di Indonesia merupakan yang tertinggi kedua setelah Srilangka. Populasi dari wilayah regional di Asia Tenggara secara genetik memang rentan terhadap faktor diabetogenik lingkungan, sehingga memiliki ambang lebih rendah terhadap faktor resiko seperti usia, kelebihan berat badan, dan distribusi lemak tubuh (WHO, 2015).

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang jika tidak segera mendapat penanganan tepat maka akan menimbulkan gangguan metabolisme protein dan lemak serta akan meningkatkan resiko timbulnya gangguan mikrovaskular atau makrovaskular (Gunawan *et al.*, 2007). Beberapa komplikasi penyakit diabetes melitus yaitu penyakit mikrovaskular seperti katarak dan retinopati yang menyebabkan kebutaan, gangguan ginjal, bisul serta penyakit makrovaskular seperti aterosklerosis dan impotensi atau penyakit jantung dan

stroke. Diabetes melitus juga dapat menyebabkan kerusakan kardiovaskular jangka panjang seperti disfungsi endotel fibrosis dan kardiomiopati (WHO, 2015).

Menurut *American Diabetes Association* (ADA), retinopati diabetik merupakan salah satu komplikasi mikrovaskuler tertinggi pada diabetes melitus (DM) tipe 1 atau 2. Prevalensi retinopati diabetik berhubungan erat dengan kontrol glukosa dan lama penyakit diabetes. Semakin lama seseorang menderita diabetes melitus dengan kadar gula darah yang lebih dari 200 mg/dl dapat menyebabkan pecahnya pembuluh darah pada retina sehingga terjadi retinopati. Peningkatan prevalensi diabetes melitus (DM) dan angka harapan hidup secara global, menyebabkan kejadian retinopati diabetik juga meningkat (Rior dan Eva *et al.*, 2007). Di Amerika Serikat terdapat kebutaan 5.000 orang pertahun akibat retinopatik diabetik, sedangkan di Inggris retinopati diabetik merupakan penyebab kebutaan nomor 4 dari seluruh penyebab kebutaan (Iyas dan Yulianti, 2014). Retinopati menduduki rangking kelima penyebab umum kebutaan yang dapat dicegah dan gangguan penglihatan secara sedang hingga berat (Bourne *et al.*, 2013). Penyakit ini menjadi salah satu penyebab utama kebutaan pada orang berumur 20-74 tahun. Hilangnya produktivitas dan kualitas hidup membawa pasien retinopati diabetik pada masalah sosial dan ekonomi (Viswanath & McGavin, 2013).

Diabetik Retinopati (DR) merupakan penyebab kebutaan yang paling sering di jumpai, terutama di negara barat. Kira-kira 1 dari 900 orang berusia 25 tahun mengidap diabetes dan kira-kira 1 dari 25 orang berusia 60 tahun adalah penyandang diabetes (Kevin & Tozer, 2015). Prevalensi DM meningkat seiring bertambahnya usia, dan jumlah orang lanjut usia penderita DM diperkirakan akan bertambah seiring bertambahnya populasi bahwa manifestasi okular penyakit sistemik yang mempengaruhi hingga 80% dari semua pasien yang menderita diabetes (Mohan, 2015). Diabetik Retinopati adalah kelainan retina, ditandai dengan hilangnya kapiler retina karena iskemia progresif dan merupakan komplikasi diabetes mellitus (DM) (Roybal, 2004). Insiden RD di Jepang adalah 38,3/1000 orang, di Indonesia sampai saat ini belum ada data (skala besar) mengenai kebutaan akibat DM (Victor, 2008).

Mekanisme disfungsi endotel pada DM tipe I sangat kompleks dan belum sepenuhnya dipahami, hipertensi dan hiperlipidemia berperan langsung. Salah satu teori, hiperglikemia memacu disfungsi endotel melalui radikal bebas yang diproduksi pada peningkatan metabolisme asam arakhidonat. *Preliminary study* menyebutkan hubungan terbalik antara sintesis *NO* dengan aktivitas radikal bebas, sehingga hiperglikemia dapat meningkatkan atau menurunkan produksi *NO* tergantung inaktivasi yang dimediasi radikal bebas. Teori lain menyebutkan hiperglikemia kronik meningkatkan aktivitas *aldosereductase* dan metabolisme glukosa lewat jalur *polyol* dan membutuhkan *NADPH* yang merupakan kofaktor esensial *NOS* untuk sintesis *NO*, maka penurunan *NADPH* menyebabkan penurunan produksi *NO* (Chan *et al.*, 2000).

Retinopati diabetik pada tikus dapat dinilai dengan kenaikan *VEGF* plasma dan ekspresi *VEGF* retina (Zhang *et al.*, 2001). Hiperglikemia memacu ekspresi *VEGF* karena stres oksidatif, diinduksi *HHcy*, menyebabkan aktivasi *PKC*, peningkatan *NO*, *uncoupling VEGF* dan *NO*, regulasi fungsi pembuluh darah retina (Hernowo, 2007; Kowluru, 2001). *VEGF* terdiri dari *VEGF A, B, C, D* dan *E*. *VEGF-A* sering disebut sebagai *VEGF* merupakan *potent vascular permeabilizing factor* dan *endothelial cell mitogen*. *VEGF-A* dijumpai pada sistem hemopoisis, pada diferensiasi sumsum tulang dan merupakan prekursor sel endotel (Dvorak, 2005). *VEGF* dihasilkan oleh berbagai sel di mata, sel peradangan (misal sel pmm dan sel mirip makrofag), sel dilapisan retina yang iskemia dan hipoksia serta neuron *pasca* mitotik, hal ini menyebabkan banyaknya *receptor VEGF* yang ditempati. Endotel retina memiliki reseptor *VEGF* yang berlimpah yang merupakan penginduksi permeabilitas pembuluh darah, oleh sebab itu retina sejak awal sudah rentan terhadap kebocoran pembuluh darah (Hernowo, 2007).

Penelitian yang dilakukan Faried *et al.* pada tahun 2014, menunjukkan pada imunohistokimia pada bagian retina adanya penurunan *VEGF* yang menjadikan *immunoreactivity* negatif di hampir semua sel ganglion, sel nuklear dalam dan lapisan nuklear luar. Pada retina tikus yang mengalami diabetes

menunjukkan *immunoreaction* positif yang kuat dalam beberapa sel dari ganglion, nuklear dalam dan lapisan nuklear luar terdeteksi *immunoreaction*.

Nigella sativa merupakan salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antioksidan dan antimikroba (Harzallah *et al.*, 2010). Biji jinten hitam sebagai tanaman herbal sering digunakan untuk terapi pencegahan atau pengobatan berbagai macam penyakit, salah satunya antidiabetes dan hiperglikemia yang telah dilaporkan pada beberapa studi ilmiah *In vivo* dan *In vitro*. Biji jinten hitam memiliki beberapa kandungan salah satunya *thymoquinone* (komponen *volatyle oil* terbesar) merupakan agen antiperadangan. Salah satu penelitian mengenai *thymoquinone* membuktikan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa serum dan peningkatan pada konsentrasi serum insulin yang rendah pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* untuk menghasilkan kondisi diabet. Penelitian yang telah dilakukan oleh Jefri (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji jinten hitam dosis 125 mg/kg bb dan 250 mg/kg bb mempunyai aktivitas menurunkan kadar gula darah, mampu meningkatkan ukuran diameter pulau Langerhans dan meningkatkan populasi sel-sel islet produksi insulin pada tikus DM yang diinduksi aloksan. Penelitian lain, Halim dan Rihiantoro (2013) menunjukkan bahwa minyak jinten hitam lebih efektif menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan *placebo*.

Berdasarkan penelitian Banundari (2012) tentang aktivitas antidiabetes biji jinten hitam, maka perlu untuk menguji aktivitas ekstrak etanol biji jinten hitam terhadap penurunan kadar *VEGF* sebagai salah satu proteksi pada jaringan retina mata tikus. *Streptozotocin* digunakan untuk induksi DM pada hewan percobaan. *Streptozotocin* bekerja dengan menghancurkan sel β pankreas.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan zat aktif dan mekanisme kerja biji jinten hitam sebagai antihiperglikemia dan mencegah kerusakan retina pada pasien DM. Hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan dalam pemanfaatan sediaan obat tradisional antidiabetes dan sebagai terapi pencegahan terjadinya komplikasi yang disebabkan hiperglikemia.

B. Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan yang akan diteliti yaitu :

1. Apakah ekstrak etanol biji jinten hitam mempunyai aktivitas antihiperlikemia terhadap tikus yang diinduksi *streptozotocin*?
2. Apakah ekstrak etanol biji jinten hitam dapat meningkatkan kadar *VEGF* pada retina?
3. Apakah ekstrak etanol biji jinten hitam dapat memperlihatkan retinopati diabetik berdasarkan gambaran histopatologi retina?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan penelitian yang dilakukan yaitu :

1. Untuk mengetahui aktivitas antihiperlikemia ekstrak etanol biji jinten hitam.
2. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol biji jinten meningkatkan kadar *VEGF*.
3. Untuk memperlihatkan retinopati diabetik berdasarkan gambaran histopatologi retina ekstrak etanol biji jinten hitam.

D. Keaslian Penelitian

Penelitian lain tentang retinopati diabetik telah dilakukan oleh beberapa peneliti antara lain, dengan *naive bayes classifier* untuk deteksi eksudat (Sopharak dan Uyyanonvara, 2007), deteksi eksudat dengan jaringan syaraf tiruan dan *support vector machine* (Osareh, 2013), segmentasi eksudat dengan *watershed transform* (Luo *et al.*, 2001), pembuluh darah dan *exudate* dideteksi dengan metode *edge detection* dengan operator Kirsch (Li Chutatape, 2000). Sepanjang penelusuran pustaka, pengaruh ekstrak etanol biji jinten hitam terhadap penurunan kadar gula darah dan penurunan kadar *VEGF* serta gambaran histopatologi retina pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* belum diteliti.

E. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk mengetahui efek jinten hitam terhadap kadar *VEGF*, penurunan kadar gula darah, dan mendeteksi gambaran kelainan retina akibat retinopati diabetik dari jinten hitam dalam terapi DM tipe II disertai penjelasan mekanisme kerjanya akan dapat meningkatkan rasionalitas penggunaan obat tradisional khususnya sebagai terapi DM dengan dasar penjelasan mekanisme kerja dan efek farmakologis dari jinten hitam ini dapat memberikan alternatif terapi dengan obat tradisional untuk mempertahankan kadar gula darah dan mencegah komplikasi pada penderita DM.